



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **MECANISMO DE REPARAÇÃO DE DNA POR EXCISÃO DE BASE**

Trabalho submetido por  
**Priscila Marisa Mendes Catarino**  
Para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**novembro de 2017**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **MECANISMO DE REPARAÇÃO DE DNA POR EXCISÃO DE BASE**

Trabalho submetido por  
**Priscila Marisa Mendes Catarino**  
Para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof.º Doutor Jorge Caldeira**

**novembro de 2017**



## DEDICATÓRIA

Dedico esta monografia ao Professor Doutor José Martins dos Santos.

*“ Há coisas que ficam na história, na história da gente ... ”*

*- Chuva, Mariza*



## AGRADECIMENTOS

Obrigado, obrigado, obrigado meu Deus por me dares esta tão grande bênção! Obrigado por toda a força que me deste nesta caminhada de 7 anos, e por permitires que ela agora chegasse ao fim. Obrigado Mãe, Obrigado Pai por nunca me deixarem desistir, mesmo quando tudo parecia impossível de se realizar. Obrigado por todo o Amor, carinho e paciência que sempre me deram, mesmo estando longe. Obrigado por todas as viagens que fizeram fora de horas, só para me darem aquele abraço encorajador e aquele beijinho que consola. Obrigado Teresa por todos os sorrisos, por todas as lágrimas, por todos os momentos que partilhámos. Obrigado por me mostrares que existe um mundo fora da minha realidade. Obrigado por toda a coragem que sempre me deste, e por acreditares em mim quando eu já não tinha forças para acreditar. Obrigado por todas as horas que passaste ao meu lado, quando podias estar a descansar, só para me acompanhares nesta luta. Obrigado pela tua mais que amizade que levo comigo para o resto da minha vida. Obrigado Veloso pela tua amizade e, por fazeres parte deste caminho, tornando-o mais leve e animado, levo-te comigo. Obrigado Paula pela pessoa que és para mim. Obrigado Sofia por teres entrado na minha vida. Obrigado Bruno por tudo. Obrigado Miguel pela preciosa ajuda. Obrigado minhas companheiras das 4 paredes, com vocês partilhei momentos únicos que já mais irei esquecer. Obrigado amigos por toda a compreensão naqueles momentos em que eu deveria ter estar por perto, mas estava longe. Obrigado Rita, por me ensinares que por mais que doa, insisto sempre só mais uma vez. Obrigado professores por toda a ajuda o auxílio prestado. Obrigado professor Jorge Caldeira por toda a ajuda, compreensão e motivação. Obrigado Dr.<sup>a</sup> Rosário Cabral e Dr.<sup>a</sup> Wanda Teixeira. Obrigado equipa da Farmácia Pragal. Obrigado equipa dos Serviços Farmacêuticos do Hospital Curry Cabral. Obrigado meus queridos colegas de trabalho pela compreensão e companheirismo. Obrigado a esta *Muy Noble Academia* por todos os valores incutidos, que certamente me fizeram crescer enquanto pessoa, e me preparam para o futuro. Obrigado a todos aqueles que cruzaram o meu caminho, porque de uma forma ou de outra o tornaram ainda mais especial.

No final, o caminho foi longo mas a vitória estava garantida.

*“De tudo sou capaz naquele que me dá força.”*























## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Tipos de lesões mais comuns detectadas e identificadas pelo mecanismo BER.....	24
Tabela 2 – <i>DNA</i> glicosilases humanas, o tipo de lesões em que actuam e a classificação das suas funções.....	30
Tabela 3 Tabela 3 – Proteínas do <i>BER</i> e as doenças neurodegenerativas associadas.....	39
Tabela 4– Proteínas do <i>BER</i> e as Doenças Humanas associadas.....	40



## LISTA DE ABREVIATURAS

AAG – *DNA* glicosilase

AP – apurínico ou apirimidínico

APE1 – AP endonuclease

*BER* – do inglês “*base excission repair*”

DA – doença de Alzheimer

*D.radiodurans* – *Deinococcus radiodurans*

DH – doença de Huntington

*DNA* – do inglês “*deoxyribonucleic acid*”

DP – doença de Parkinson

ELA – esclerose lateral amiotrófica

LigIII – *DNA* ligase III

LP – do inglês “*long patch*”

MBD4 – *DNA* glicosilase

MEV- microscópio electrónico de varrimento

MUTYH – *DNA* glicosilase

NEIL1- *DNA* glicosilase

NTH1- *DNA* glicosilase

OGG1 – *DNA* glicosilase

Pol $\beta$ - *DNA* polimerase  $\beta$

Pol  $\lambda$  – *DNA* polimerase  $\lambda$

*RNA* – do inglês “*ribonucleic acid*”

SMUG1 – *DNA* glicosilase

SP – do inglês “*short patch*”

TDG – *DNA* glicosilase

UDG – *DNA* glicosilase

XRCC1 – co-factor da *DNA* ligase III

## Metodologia de Pesquisa

Esta monografia foi realizada com base numa pesquisa bibliográfica actual, maioritariamente assente em artigos científicos publicados entre os anos de 2001 e 2017.

Com o intuito de enquadrar historicamente alguns conceitos foram utilizadas publicações de anos anteriores aos anos referidos anteriormente, em situações pontuais.

De forma a realizar uma pesquisa mais centralizada foram utilizados termos como “*DNA repair*”, “*Oxidative Stress*”, “*BER*”, “*Neurogenetic Diseases*”, “*Cancer*” e “*Deinococcus radiodurans*”.

Para uma organização consistente das referências bibliográficas e de citações de autores, e posterior gestão e inserção das mesmas, foi utilizado o programa *Mendeley Desktop*®, versão 1.17.10.



## 1. Introdução

Desde a sua descoberta em 1944 (Portin, 2014) passando pela descoberta da sua estrutura em dupla hélice em 1953 (Watson, J. ; Crick, 1953) e concluindo a descoberta da sua composição em 1969 (Portin, 2014) até à actualidade, a molécula de *DNA* tem sido utilizada para a compreensão do funcionamento de todos os seres vivos.

Tendo em conta todos os processos aos quais o nosso material genético está sujeito é espectável que ocorram alguns erros (Lindahl, Modrich, & Sanca, 2015) que podem ser induzidos por agentes endógenos e/ou exógenos (Schärer, 2003). A maioria destes erros ocorrem devido às situações de stress oxidativo a que o nosso *DNA* está exposto ao longo da nossa vida. Os alimentos, as situações inflamatórias e a quimioterapia são alguns dos exemplos que melhor as ilustram (Markkanen, 2017) .

Com vista a salvaguardar a integridade do material genético humano, as células desenvolveram mecanismos que permitem neutralizar lesões e minimizar as mutações consequentes destes erros. Mecanismos como a foto reactivação, a excisão de nucleótido (*NER*) e o “*mismatch*” (*MMR*) promovem a reparação do *DNA*. (Royal, Academy, & Sciences, 2016).

O mecanismo *BER* é o principal responsável por reparar o *DNA* após este sofrer processos de desaminação, oxidação e alquilação. Sendo este considerado um mecanismo essencial para que ocorra o metabolismo celular de forma normal (Schärer, 2003). Em 2015, Tomas Lindahl, Paul Modrich e Aziz Sancar foram congratulados com o Prémio Nobel da Química por descobrirem e explicarem o funcionamento deste mecanismo, e a sua importância para a conservação da informação genética (Lindahl et al., 2015).

Alguns polimorfismos presentes em enzimas fundamentais ao bom funcionamento deste mecanismo são descritos como factores de predisposição ao cancro (Wallace, Murphy, & Sweasy, 2013).

Recentemente uma bactéria de cor rosa, esférica, *Gram positiva* e de nome *Deinococcus radiodurans* surpreendeu a comunidade científica ao apresentar uma alta resistência a agentes prejudiciais para o *DNA*, nomeadamente a radiação e a agentes químicos tóxicos.

A sua correlação com o *BER* baseia-se no facto do seu genoma conter uma elevada concentração de *DNA* glicosilases fundamentais para o funcionamento deste mecanismo (Timmins & Moe, 2016).



## 2. A estrutura do DNA

Em 1944 a molécula de *DNA* foi descoberta, no entanto só em 1953, *Watson* e *Crick* realizaram a primeira publicação sobre a sua descoberta em relação à estrutura de dupla hélice do DNA (Watson, J. ; Crick, 1953).

Estes afirmaram que cada uma das duas cadeias de *DNA* se encontrava organizada da mesma forma, mas no entanto com direcções opostas, formando uma dupla hélice em que as bases se encontram viradas para o interior e os grupos para o exterior (Watson, J. ; Crick, 1953).



Figura 1 – Primeira representação da estrutura em dupla hélice do DNA .Adaptado de “*Molecular Structure of nucleic acids*”. Watson, J. ; Crick, 1953.

Esta descoberta permitiu que ambos ganhassem o Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina em 1962.

Em 1969, a forma como funcionava e a sua estabilidade começaram a ser estudadas, o que permitiu o conhecimento desta molécula que temos nos dias de hoje (Lindahl et al., 2015).

O genoma humano é composto por 46 cromossomas (23 pares) contem na sua composição ácido desoxirribonucleico (Lindahl et al., 2015).

Dos 23 pares, 22 deles são autossómicos e 1 par é o cromossoma sexual, que vai variar consoante o sexo do individuo. Os indivíduos do sexo masculino apresentam no seu genoma o cromossoma XY, e os indivíduos do sexo feminino o cromossoma XX (Lindahl et al., 2015).

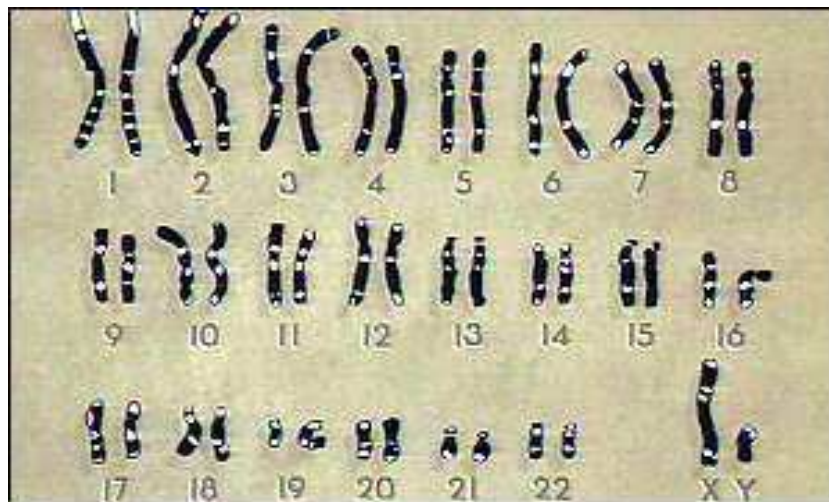


Figura 2 – Imagem dos 23 pares de cromossomas humanos. Do número 1 até ao número 22 são cromossomas autossómicos, o X e Y são cromossomas sexuais. Adaptado do site da BBC, consultado a 27 de Novembro de 2017.

Este é constituído por duas cadeias de nucleótidos que se mantêm unidas em dupla hélice por pontes de hidrogénio. Cada um destes nucleótidos é composto por um grupo fosfato, uma desoxirribose, e uma base nitrogenada (Lindahl et al., 2015)

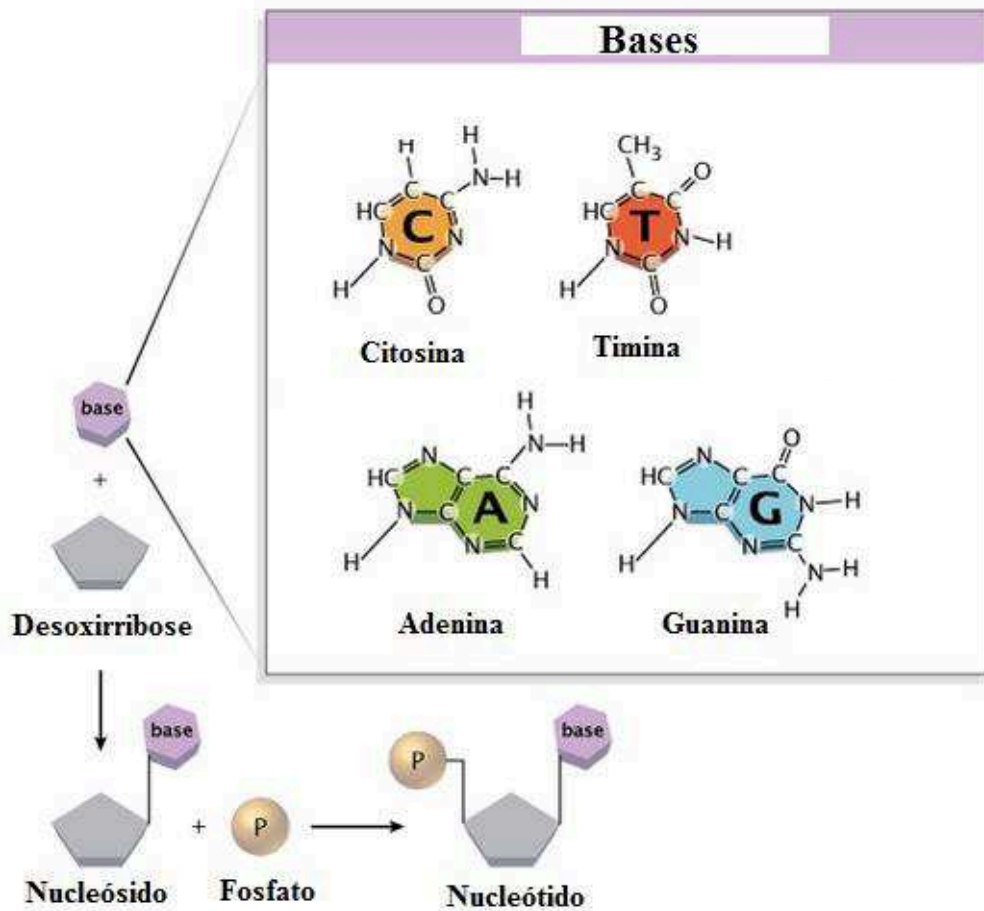


Figura 3– Representação esquemática da composição de um nucleótido. Deste faz parte uma base, um açúcar composto por cinco carbonos (desoxirribose) e um grupo fosfato. E as quatro possíveis bases existentes. Adaptado de “*Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick*”, Leslie A. Pray, 2008.

No nosso genoma existem quatro bases nitrogenadas diferentes: a adenina (A), a timina (T), a guanina (G) e a citosina (C). A adenina emparelha com a timina, e a guanina com a citosina, formando assim os pares de base (Lindahl et al., 2015).

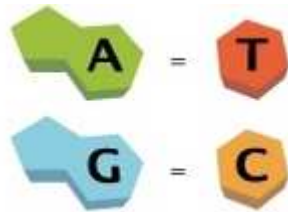
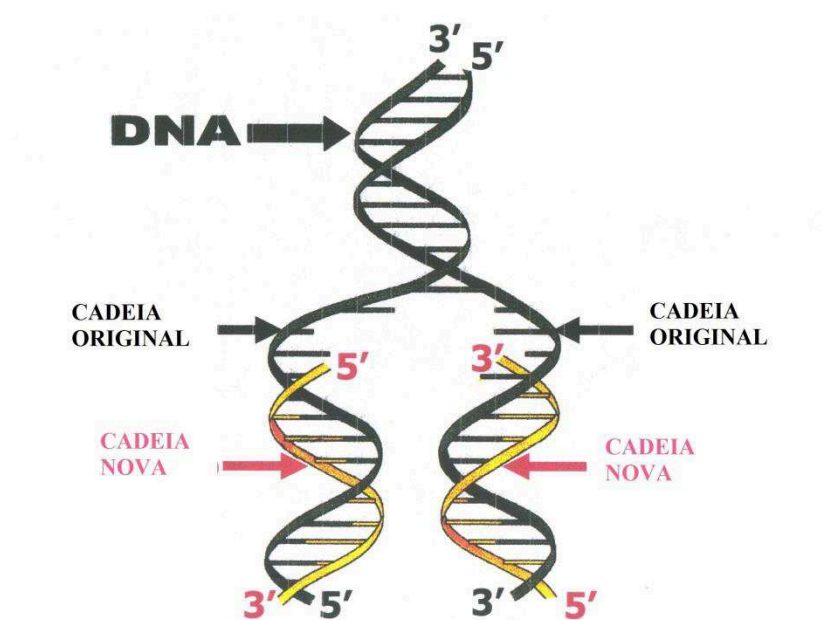


Figura 4 – Representação esquemática do emparelhamento das bases ao longo da cadeia de dupla hélice. Adaptado de “*Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick*”, Leslie A. Pray, 2008.

Quando as nossas células entram em processo de divisão, a chamada replicação celular, todos os nossos 46 cromossomas são copiados. Nesta altura as cadeias de DNA separam-se e dão origem a duas novas cadeias (Lindahl et al., 2015).



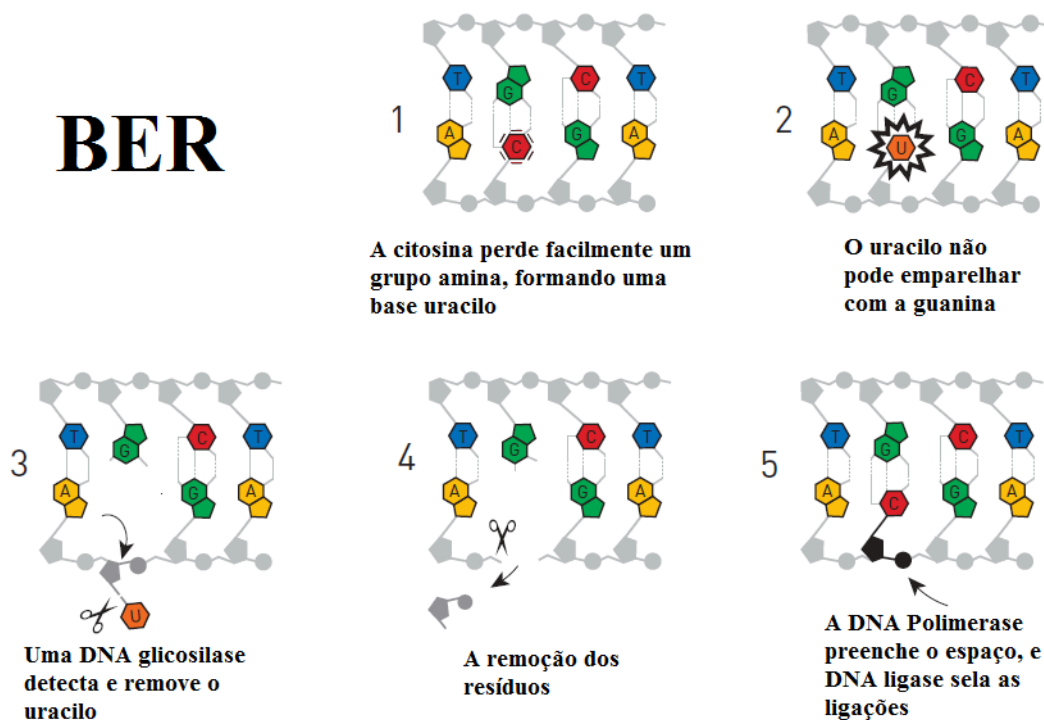
No entanto ao longo deste processo sabemos que poderão existir algumas falhas, e como tal existem mecanismos intrínsecos que identificam e reparam as lesões que ocorrem no *DNA* (Lindahl et al., 2015).



### 3. O mecanismo BER

Este é um dos mecanismos de reparação celular, que actua quando o *DNA* é danificado durante o seu ciclo celular. O *BER* é accionado aquando uma falha de correspondência numa das bases de um ou mais nucleótidos (Schärer, 2003).

Podemos resumir este mecanismo em cinco passos fundamentais: primeiramente existe o reconhecimento e a excisão da base danificada por parte de uma *DNA*-glicosilase, seguindo-se a inserção de um açúcar -fosfato na zona AP, no terceiro passo existe o processamento e a remoção dos resíduos de açúcar, posteriormente uma *DNA* polimerase realiza o preenchimento do espaço em falta, e por fim existe a finalização do processo levada a cabo por uma *DNA* ligase, selando assim as alterações realizadas à estrutura de *DNA* (Chaim et al., 2017).







<p><b>Desaminação de bases</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Hipoxantina</b> (resultante da perda do grupo amina por parte da adenina);</li> </ul> <div data-bbox="667 387 1230 618" data-label="Chemical-Block"> <p style="text-align: center;">Adenina <span style="margin-left: 100px;"></span> Hipoxantina</p> </div> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Xantina</b> (resultante da perda do grupo amina por parte da guanina);</li> </ul> <div data-bbox="572 875 1315 1140" data-label="Chemical-Block"> <p style="text-align: center;">Guanina <span style="margin-left: 100px;"></span> Xantina</p> </div>
<p><b>Uracilo</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incorporado de forma inadequada na cadeia de <i>DNA</i>;</li> <li>• Resultante da desaminação da citosina.</li> </ul> <div data-bbox="611 1529 1262 1821" data-label="Chemical-Block"> <p style="text-align: center;">Citosina <span style="margin-left: 100px;"></span> Uracilo</p> </div>

Contudo encontram-se descritos na literatura mais de cem diferentes tipos de lesões oxidativas, para as quais este mecanismo tem a capacidade de actuar. Estimasse que este terá eventualmente a capacidade de corrigir lesões até mesmo provocadas por factores exógenos, no entanto pouco estudados até à data (Royal et al., 2016) .

### 3.1 A escolha entre “*patch*” curto ou “*patch*” longo

Após este reconhecimento inicial da lesão é necessário identificar a quantidade de nucleótidos que se encontram lesados, em que estadio do ciclo celular se encontra a célula e se esta é uma célula proliferativa ou não; visto que existem dois “caminhos” que podem ser escolhidos para efectuar este mecanismo (Krokan & Bjørås, 2013).

O chamado “*patch*” curto, também conhecido por “*single-nucleotide patch*”, é caracterizado por se realizar quando se identifica apenas um nucleótido lesionado, ou seja, existe apenas uma falha com necessidade de ser colmatada (Krokan & Bjørås, 2013).

No “*patch*” longo, são identificadas falhas em vários nucleótidos, que podem variar, em número, entre os dois e os doze nucleótidos. Este é utilizado preferencialmente em células proliferativas (Krokan & Bjørås, 2013) (Markkanen, 2017).

Ao longo desta monografia iremos focar-nos apenas no mecanismo BER de “*patch*” curto.

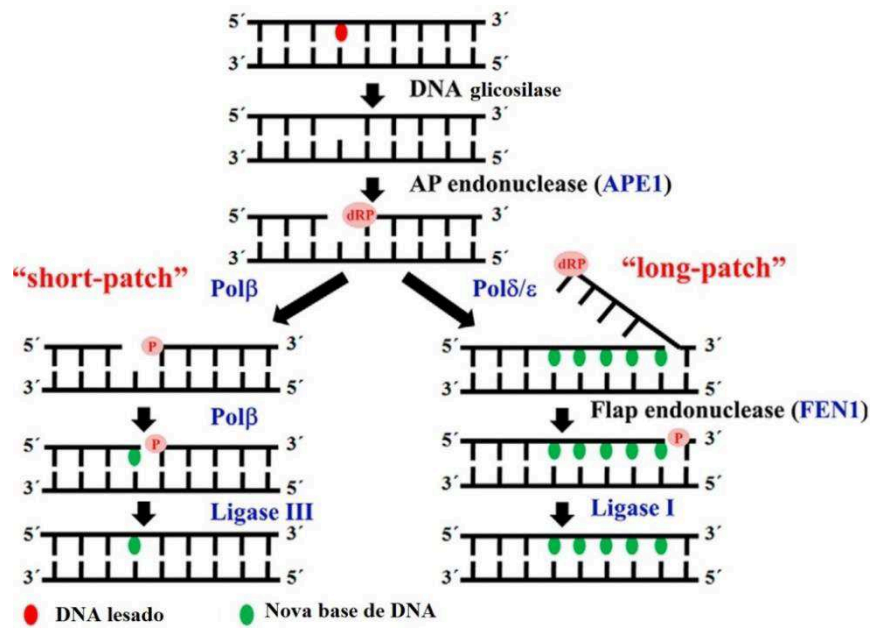


Figura 7 – Representação esquemática do SP e do LP. Com a indicação das enzimas envolvidas em cada passo e o respectivo local de acção.



#### 4. Proteínas envolvidas no BER de “patch” curto

##### 4.1 DNA Glicosilases

Para que o mecanismo se inicie são necessárias enzimas específicas que reconhecem o “erro”, as chamadas *DNA* glicosilases, e que dão início a todo o processo de reparação do DNA (Krokan & Bjørås, 2013).

As *DNA* glicosilases têm a capacidade de reconhecer a base onde se encontra a lesão, e posteriormente de clivarem a ligação N-glicosídica entre a base lesada e a estrutura de DNA adjacente, criando assim um espaço AP. Desta quebra resulta uma extremidade 3' – hidroxilo e outra 5'- fosfato-desoxirribose (van der Veen & Tang, 2015).

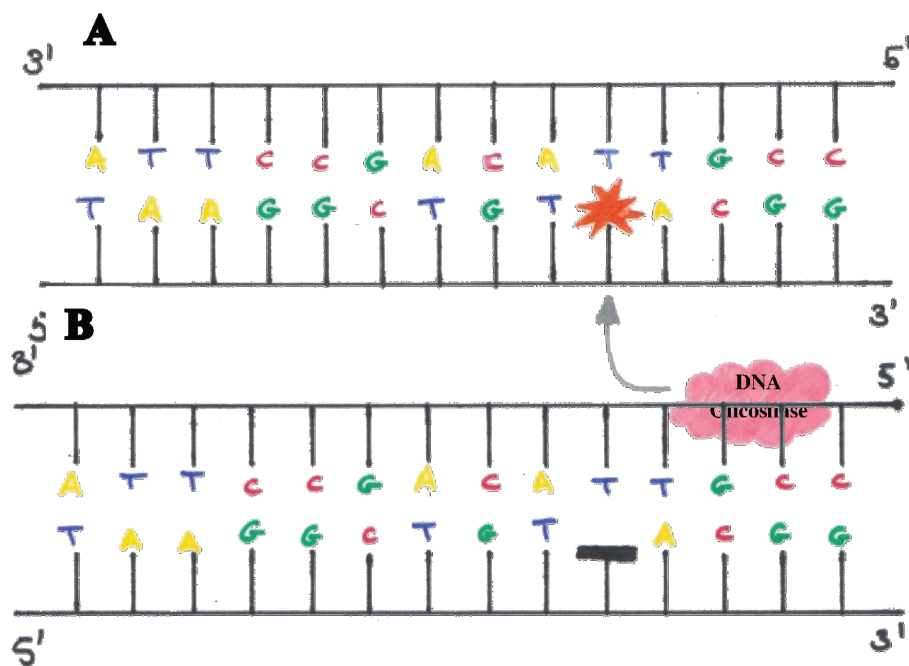


Figura 8 – Representação esquemática do papel das DNA glicosilases no BER. Em A, podemos observar o reconhecimento do erro por parte da DNA glicosilase. Em B, podemos observar o local AP realizado pela mesma.

Algumas das *DNA* glicosilases existentes são específicas para determinados tipo de lesões, enquanto que outras podem reconhecer um vasto tipo de lesões, e actuar sobre estas de igual forma (van der Veen & Tang, 2015).

Podem ser classificadas como mono ou bi-funcionais. As mono-funcionais têm apenas função de glicosilases, utilizando uma molécula de água como grupo nucleófilo para quebrar a ligação N-glicosídica. Enquanto que as bi-funcionais podem também ter função de liases, usando o grupo amina como nucleófilo (van der Veen & Tang, 2015) (Schärer, 2003).

Na tabela seguinte mostramos algumas das *DNA* glicosilases humanas, mencionando em que tipo de lesões actuam e se têm mais do que uma função.

Tabela 2 – *DNA* glicosilases humanas, o tipo de lesões em que actuam e a classificação das suas funções.

Enzima	Tipo de lesão	Mono ou bi-funcional
<b>UDG</b>	Desaminação da citosina (uracilo)	Mono-funcional
<b>SMUG1</b>	Desaminação da citosina (uracilo)	Mono-funcional
<b>TDG</b>	Desaminação da citosina (uracilo), desaminação da timina	Mono-funcional
<b>MBD4</b>	Desaminação da citosina (uracilo), desaminação da timina	Mono-funcional
<b>OGG1</b>	Oxidação da guanina	Bi-funcional
<b>MUTYH</b>	Oxidação da guanina	Mono-funcional
<b>NTH1</b>	Oxidação da timina	Bi-funcional
<b>NEIL1</b>	Oxidação da timina	Bi-funcional
<b>AAG</b>	Alquilação da adenina, Alquilação da guanina	Mono-funcional

À semelhança de outros componentes do organismo humano, estas enzimas são alvo de processos de regulação, visto que também estas se replicam (Markkanen, 2017).

O défice ou uma produção excessiva deste tipo de enzimas está directamente relacionado com o aumento da predisposição de um individuo a várias doenças (Markkanen, 2017).

## 4.2 AP endonucleases

Os locais apurínicos/apirimidínicos são as lesões mais comuns presentes no *DNA* que podem levar à inibição da sua transcrição ou até mesmo bloquear a sua replicação. Estes podem ser gerados por diversos processos, nomeadamente após a intervenção das *DNA* glicosilases durante o BER (Roychoudhury et al., 2016). Os locais AP possuem bastante reactividade química, sendo a sua reparação um processo fundamental para que se consiga manter a estabilidade química do nosso genoma (Dyrkheeva, Lebedeva, & Lavrik, 2016).

Com vista a reparar estes locais existem as AP endonucleases que são consideradas as enzimas mais importantes do *BER*, visto serem as que dão início à reparação do *DNA* propriamente dita (Dyrkheeva et al., 2016).

Estas encontram-se divididas em 2 famílias, cuja divisão se prende pela sua semelhança com a sequência de aminoácidos com a da exonuclease III ou com a endonuclease IV da *Escherichia Coli*.

Nos Humanos, a principal endonuclease tem o nome de APE1, que pertence à família relacionada com exonuclease III. Esta é uma proteína que está presente no nosso organismo, e é sintetizada em grande escala pelas células humanas. Possui diversas funções que podem ir muito para além da reparação de *DNA* (Roychoudhury et al., 2016) (Dyrkheeva et al., 2016).

No *BER*, esta enzima tem a capacidade de unir o espaço que existe entre extremidade 3' – hidroxilo e a 5' – fosfato – desoxirribose do local AP. Conseguindo assim garantir a restauração da ligação do açúcar-fosfato da cadeia de *DNA*.

Vejamos então como funciona esta enzima:

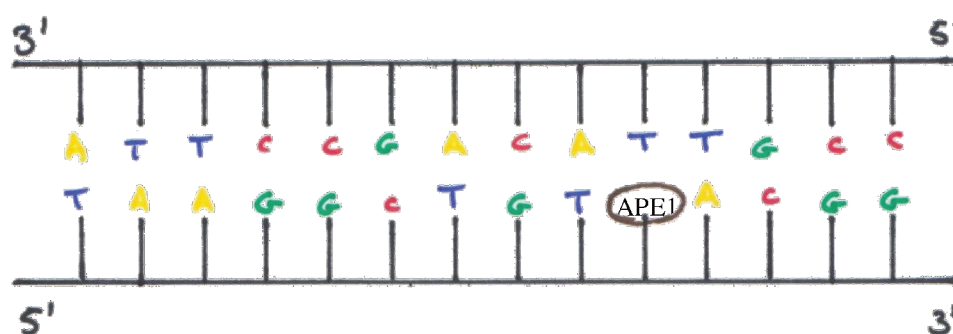


Figura 9 - Representação esquemática do funcionamento da APE1. Esta liga as extremidades do local AP.

### 4.3 DNA Polimerase $\beta$

Esta enzima é responsável por formar um e só um novo nucleótido durante o processo de reparação do *DNA* (Beard & Wilson, 2006).

A Pol  $\beta$  é a principal polimerase humana, que possui a capacidade de sintetizar *DNA* e de realizar a lise da ligação dRP resultante do preenchimento do local AP (Beard & Wilson, 2006). Ou seja, esta enzima preenche o espaço deixado pela APE1 com um novo nucleótido, e posteriormente elimina os resíduos deixados pela mesma (Goellner Eva, Svilar David, Almeida Karen H., 2014). Esta enzima pertence à classe X das polimerases, bem como a Pol  $\lambda$ , sendo esta capaz de substituir quando da sua falta, visto que são enzimas cuja principal função é integrar o mecanismo BER (Burgers et al., 2001).

Vejamos então esquematicamente como esta funciona:



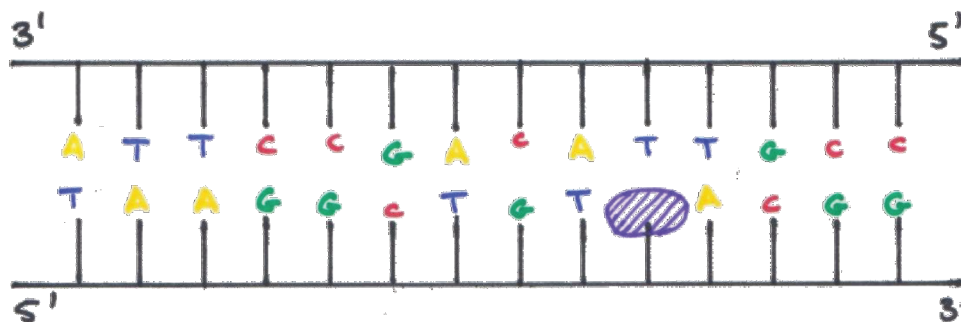


Figura 10– Representação esquemática do funcionamento da Pol  $\beta$ , em que esta preenche o espaço, e remove os resíduos deixados após a acção da APE1.

#### 4.4 DNA Ligase

Este tipo de enzima tem um papel fundamental no que toca a manter a integridade do genoma. As *DNA* ligases têm a capacidade de unir as extremidades resultantes da rutura da ligação fosfodiéster do *DNA*, quer estas ocorram durante a sua replicação e recombinação; quer sejam consequência de uma reparação de *DNA* (Tomkinson & Sallmyr, 2013) (Mortusewicz, Rothbauer, Cardoso, & Leonhardt, 2006).

No entanto apenas a *DNA* ligase III  $\alpha$  está implicada no “*patch*” curto do *BER*. Para que esta seja activada tem que formar um complexo com a XRCC1, e assim poderá iniciar as suas funções (Mortusewicz et al., 2006).

Desta forma a *ligIII* em conjunto com a XRCC1 tem a capacidade de unir o novo nucleótido às extremidades 3' e 5', respectivamente; e de selar esta ligação de forma a que esta seja definitiva (Mortusewicz et al., 2006).

Vejamos a forma como esta finaliza este mecanismo:

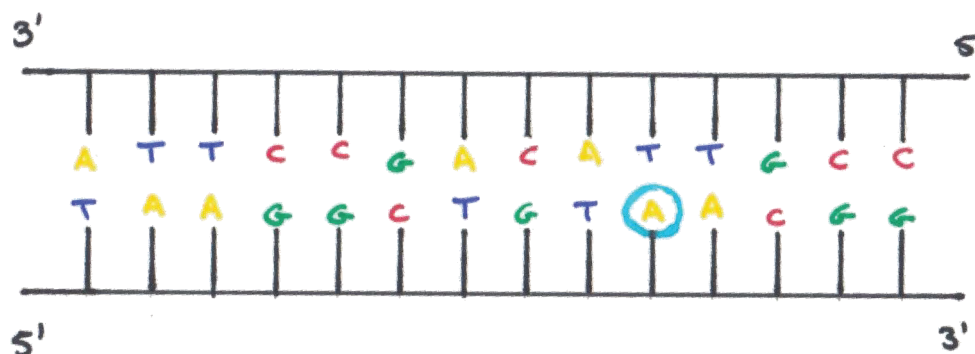


Figura 11 – Representação esquemática do funcionamento da *ligIII* com a XRCC1 no BER, em que a nova base já se encontra funcional.

Neste momento o novo nucleótido já se encontra incorporado na cadeia de *DNA*, e de forma totalmente funcional. Assim sendo, o *DNA* está reparado, podendo assim continuar o seu ciclo celular de forma normal (Odell, I. D, Barbour, J.-E.Murphy, D. L, Della-Maria, J. A, Sweasy, J. B, Tomkinson, A. E., Wallace, S. S., Pederson, 2011).

## **5. A idade *versus* o declínio do mecanismo *BER***

O processo de envelhecimento ao qual o ser humano está sujeito é um dos principais desencadeadores de morbilidades, e um dos principais factores de mortalidade (Li, Yinyin, Goronzy, Jörg J.Weyand, 2017).

Este é um processo que ocorre de forma progressiva, e que nos torna mais vulneráveis às alterações do nosso meio envolvente (Leandro, Giovana S., Sykora & Bohr, 2015).

Estudos realizados *in vitro* demonstraram uma redução na capacidade de reparação do *DNA* com o passar da idade. Alguns órgãos foram testados, e observou-se um declínio entre os 50% e os 75% no desempenho deste processo (Leandro, Giovana S., Sykora & Bohr, 2015).

Este fenómeno deve-se ao facto de existir uma diminuição da produção das enzimas envolvidas no mecanismo BER, e/ou ao facto de o nosso organismo estar mais vulnerável a alterações externas, o que faz com que existam mais mutações aquando da replicação destas enzimas, levando a que estas não cumpram as suas funções eficazmente, traduzindo-se assim na falha deste mecanismo (Leandro, Giovana S., Sykora & Bohr, 2015) (Li, Yinyin, Goronzy, Jörg J.Weyand, 2017) (Markkanen, 2017).

Assim sendo, a idade torna-se um fator não só importante, mas também limitante no que diz respeito à reparação de *DNA*.



## 6 O BER e as doenças

Os níveis de proteínas envolvidas no *BER* diferem de pessoa para pessoa e, dos tecidos envolvidos. A estabilidade do genoma humano é garantida através da regulação destas proteínas. Para que não ocorram erros, estas proteínas têm que existir em níveis suficientes, com vista a que os danos presentes no *DNA* possam ser reparados no mínimo tempo possível (Markkanen, 2017).

Se os níveis destas proteínas se encontram baixos, ou a sua actividade se encontra reduzida, esta situação irá traduzir-se num impacto negativo no que toca à estabilidade do genoma e à viabilidade celular (Markkanen, 2017).

Como tal, a formação de mutações no nosso código genético poderão nos colocar perante um risco elevado de desenvolvimento de doenças neuro-degenerativas, bem como de cancro (Markkanen, 2017).

### 6.1 Doenças neuro-degenerativas

A morte de neurónios por apoptose reflecte-se numa perda de estruturas e de funções neuronais, à qual damos o nome de declínio degenerativo progressivo (Jeppesen, Dennis Kjølhed;Bohr, Vilhelm a.;Stevnsner, 2011).

O principal factor que leva ao desenvolvimento de uma doença neurodegenerativa progressiva é o envelhecimento, no entanto não é o único. Com a idade deparamo-nos com a diminuição do volume e, consequentemente das funções cerebrais, como tal as principais doenças degenerativas como o Alzheimer, o Parkinson, a Esclerose Lateral Amiotrófica, a doença de Huntington, têm uma maior prevalência junto da população idosa (Jeppesen, Dennis Kjølhed;Bohr, Vilhelm a.;Stevnsner, 2011).

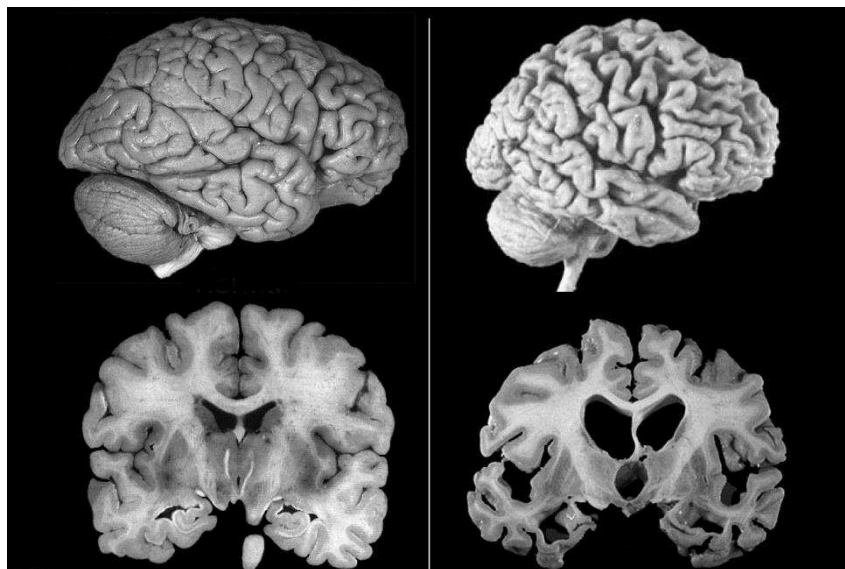


Figura 12 – Na figura mais à direita podemos observar imagens de um cérebro normal. Na figura mais à esquerda podemos observar imagens de um cérebro com doença Alzheimer. Adaptado do site *futurism.com*, consultado a 27 de Novembro de 2017

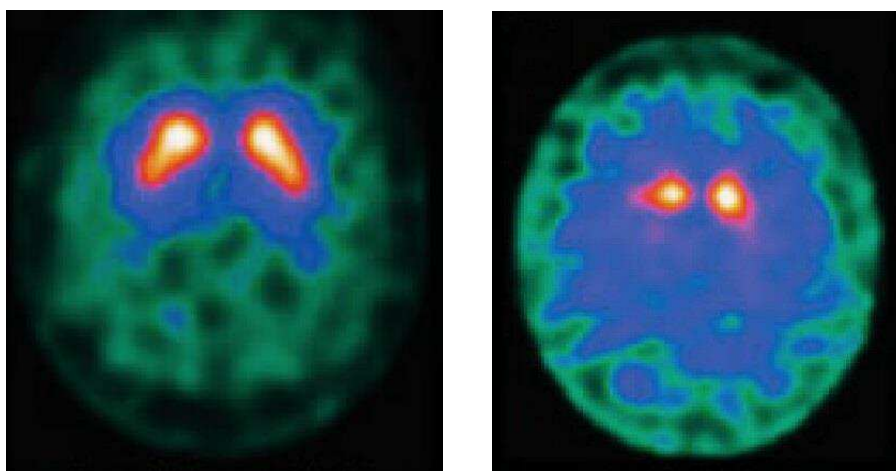


Figura 13– Na figura mais à direita podemos observar imagens de um cérebro normal. Na figura mais à esquerda podemos observar imagens de um cérebro com doença Parkinson. Adaptado do site *futurism.com*, consultado a 27 de Novembro de 2017

As lesões provocadas nas células induzidas pela sua exposição ao stress oxidativo são consideradas as mais relevantes com o passar dos anos, e é importante termos em conta que os nossos neurónios realizam muitas reacções de metabolização do oxigénio, em particular nas suas mitocôndrias. Sendo estas células que necessitam de energia em grande quantidade e, que têm um tempo de vida longo; e considerando que existem poucas enzimas antioxidantes no cérebro as lesões mais prováveis de ocorrer neste órgão são lesões de origem oxidativa (Jeppesen, Dennis Kjølhed;Bohr, Vilhelm a.;Stevnsner, 2011) .

No entanto este decréscimo poderá também estar associado a polimorfismos presentes em enzimas que fazem parte dos mecanismos de reparação de *DNA*, que limitam a sua capacidade de recuperação perante os erros que ocorrem (Markkanen, 2017) .

Na tabela seguinte podemos observar quais as associações entre as proteínas do BER e as doenças neurodegenerativas:

Tabela 3 Tabela 3 – Proteínas do *BER* e as doenças neurodegenerativas associadas.

Proteína	Doença Humana Associada
<b>OGG1</b>	DP, DA,ELA, DH
<b>MUTYH</b>	DP, DA, DH
<b>DNA polimerase <math>\beta</math></b>	DA, DH
<b>XRCC1</b>	DA, DH

Desta forma podemos constatar que o bom funcionamento mecanismo *BER* tem um papel fundamental na preservação da função neuronal.

## 6.2 O Cancro

O cancro é considerado um grupo de doenças que deriva do crescimento anormal das células, consequente de uma mutação genética. Durante este processo de

crescimento descontrolado estas células podem adquirir propriedades que lhes conferem a capacidade de se moverem para outros tecidos, bem como a capacidade de não morrerem. Estas células podem espalhar-se por todo o organismo utilizando o sistema circulatório e/ou linfático. Podem existir vários tipos de cancros, dependendo a sua origem (Markkanen, 2017).

Na origem do cancro está a carcinogénese, processo pelo qual uma célula normal passa a ser uma célula cancerígena (Markkanen, 2017).

Este processo tem por base um erro que ocorreu algures durante o ciclo celular de uma ou várias células, e que o nosso organismo não teve a capacidade de corrigir. Mecanismos de reparação de *DNA* têm um papel fundamental na prevenção deste tipo de erros. No entanto, estes mecanismos também podem desenvolver algumas lesões o que leva a que não exista uma reparação eficaz do mesmo (Markkanen, 2017).

O mecanismo de reparação de *DNA* por excisão de base pode evitar que alguns destes erros ocorram, mas por outro lado alguns dos polimorfismo presentes nas proteínas que o compõem são descritos como potenciadores deste tipo de patologia (Markkanen, 2017).

Vejamos então a seguinte tabela realiza a associação entre as proteínas utilizadas no *BER* e o cancro:

Tabela 4– Proteínas do *BER* e as Doenças Humanas associadas.

<b>Proteína</b>	<b>Doença Humana Associada</b>
<b>OGG1</b>	Vários tipos de cancro
<b>MUTYH</b>	Vários tipos de cancro
<b>APE 1</b>	Vários tipos de cancro
<b>DNA polimerase <math>\beta</math></b>	Vários tipos de cancro
<b>XRCC1</b>	Vários tipos de cancro
<b>DNA Ligase III</b>	Vários tipos de cancro



No caso da OGG1 esta pode estar associada a vários tipos de cancro, nomeadamente no cancro da bexiga (Ahmed, Tayyaba; Nawaz, Noreen, Rabia; Bangash, Kashif Sardar; Rauf, Abdur; Younis, Anwar, & Khawaja, Muhammad Athar; Azam, Maleeha; Qureshi, Abid Ali; Akhter, Saeed; Kiemeny, Lambertus A; Qamar, Raheel; Ali, 2017), devido à variedade de polimorfismos e de mutações que ela pode apresentar. Por outro lado, pode ter um papel altamente preventivo no que toca à sua capacidade de remoção na correcção dos erros associados à oxidação da guanina.

Em relação à MUTYH as mutações associadas a esta proteína são descritas como um factor de pré-disposição ao desenvolvimento de cancro colo-rectal (Kantor, Micaella; Sobrado, Javier; Patel, Sima; Eiseler, Sara; Ochner, 2017).

A elevada expressão de APE1 está associada a casos de cancros bastante agressivos e resistentes aos mais variados tratamentos. Levando a uma taxa de sobrevivência muito reduzida particularmente em cancros sólidos (Yao, YanHong; Wang, HaiTao; Li, 2014).

A DNA polimerase  $\beta$  tem evidências descritas na formação de alguns tumores aquando da presença de polimorfismos (Markkanen, 2017).

A produção de XRCC1 é encontrada em grande quantidade em alguns cancros, ou seja, a sua produção excessiva pode ser a principal causa do desenvolvimento deste tipo de patologias (Markkanen, 2017). Nomeadamente no carcinoma hepático (Guan, Qinghai; Chen, Zhiqiang; Chen, Qiangpu; Zhi, 2017).

No caso da DNA ligase III os seus polimorfismos estão descritos como factores de contribuição para a progressão da leucemia (Markkanen, 2017).

Como tal a regulação destas enzimas é fundamental para o controlo deste tipo de patologias.



## 7 A *Deinococcus radiodurans*

Esta bactéria cujo nome deriva do Grego Antigo, “ grão terrível”, e em que os termos em Latim significam “ sobrevivente à radiação”; foi descoberta no ano de 1956 na Costa Oeste dos Estados Unidos, mais propriamente em *Corvallis* no estado do *Oregon* (Makarova, K. S., Aravind, L.Wolf, Y. I.Tatusov, R. L., Minton, K. W., Koonin, E. V.Daly, 2001).

Arthur W. Anderson pretendia descobrir se seria possível esterilizar comida enlatada utilizando uma quantidade elevada de radiação gama. O processo consistia em expor um pedaço de carne a esta radiação em quantidades tão altas, que permitissem garantir que não seria possível o desenvolvimento de nenhum organismo vivo neste alimento. No entanto, e para seu espanto, a carne degradou-se ficando assim impossibilitada de ser consumida. Desta forma foi possível isolar esta bactéria pela primeira vez. No entanto, a sua sequência de *DNA* só ficou totalmente conhecida em 1999, ano em que foi publicada pelo “ *The Institute for Genomic Research*” (Makarova, K. S., Aravind, L.Wolf, Y. I.Tatusov, R. L., Minton, K. W., Koonin, E. V.Daly, 2001).

Tem uma forma grande e esférica, com um diâmetro entre os 1,5e os 3,5  $\mu\text{m}$ . Esta é uma bactéria aeróbia obrigatória, que se alimenta de compostos orgânicos. Como tal, é encontrada frequentemente em ambientes ricos nestes compostos, nomeadamente no solo, nas fezes e/ou em materiais de utilização médica. Normalmente é encontrada agrupada em grupos de quatro células (Makarova, K. S., Aravind, L.Wolf, Y. I.Tatusov, R. L., Minton, K. W., Koonin, E. V.Daly, 2001)(Battista, 1997).

*D.radiodurans* apresenta uma particularidade, visto que após a realização de uma coloração *Gram*, as suas células coram como *Gram* (+) mas o seu invólucro apresenta uma coloração *Gram* (-), devido ao facto do seu invólucro possuir várias camadas e ter uma composição lipídica. As suas colónias normalmente apresentam uma cor rosa avermelhada, e é descrita como sendo uma bactéria não patogénica, sendo facilmente cultivada, a uma temperatura óptima de 32°C. As suas células demoram cerca de 100 minutos até atingirem o dobro da sua quantidade inicial, e as suas colónias levam cerca de três dias até se encontrarem totalmente desenvolvidas (Battista, 1997) (Slade & Radman, 2011).

No “*Guinness Book*”, a *Deinococcus radiodurans* está presente como sendo a mais resistente das bactérias conhecidas. Na literatura, é descrita como sendo uma bactéria poliextremófila, ou seja, resistente aquando da sua exposição a condições extremas de temperatura e/ou acidez. A sua limitação térmica é acima dos 39°C, e foi testada em meios com elevadas concentrações de sulfato de magnésio e de ácido sulfúrico, aos quais sobreviveu (Slade & Radman, 2011).

A sua capacidade de resistência é tão elevada, que esta consegue sobreviver quando exposta a radiações ionizantes, dissecação, a luz ultravioleta, a oxidação e a agentes electrófilos (Slade & Radman, 2011).

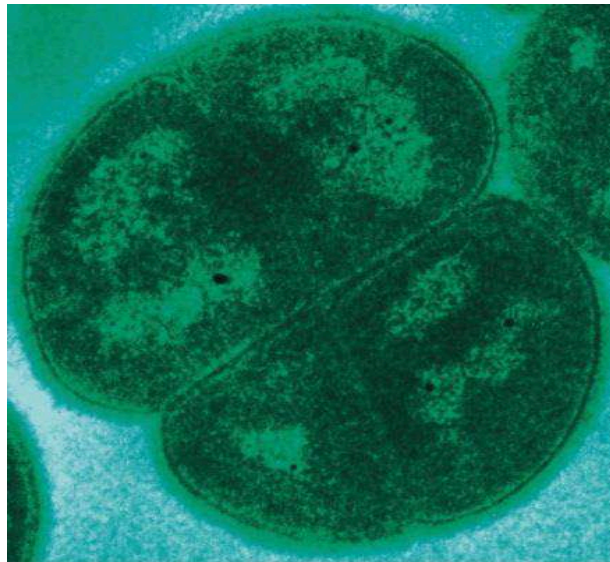


Figura 14— *Deinococcus radiodurans* captada por microscopia de transmissão electrónica. Adaptado do site da “*Uniformed Services University*”.

## 7.1 O seu genoma

O genoma *Deinococcus radiodurans* é composto por dois cromossomas de forma circular, em que um deles apresenta 2,648,638 pares de base e, o outro 412,348 pares de bases; por um megaplasmídeo de 177,666 pares de base e, por um plasmídeo de 45,704 pares de base. No total, o seu genoma apresenta cerca de 3,284,146 pares de base (White, 1999).

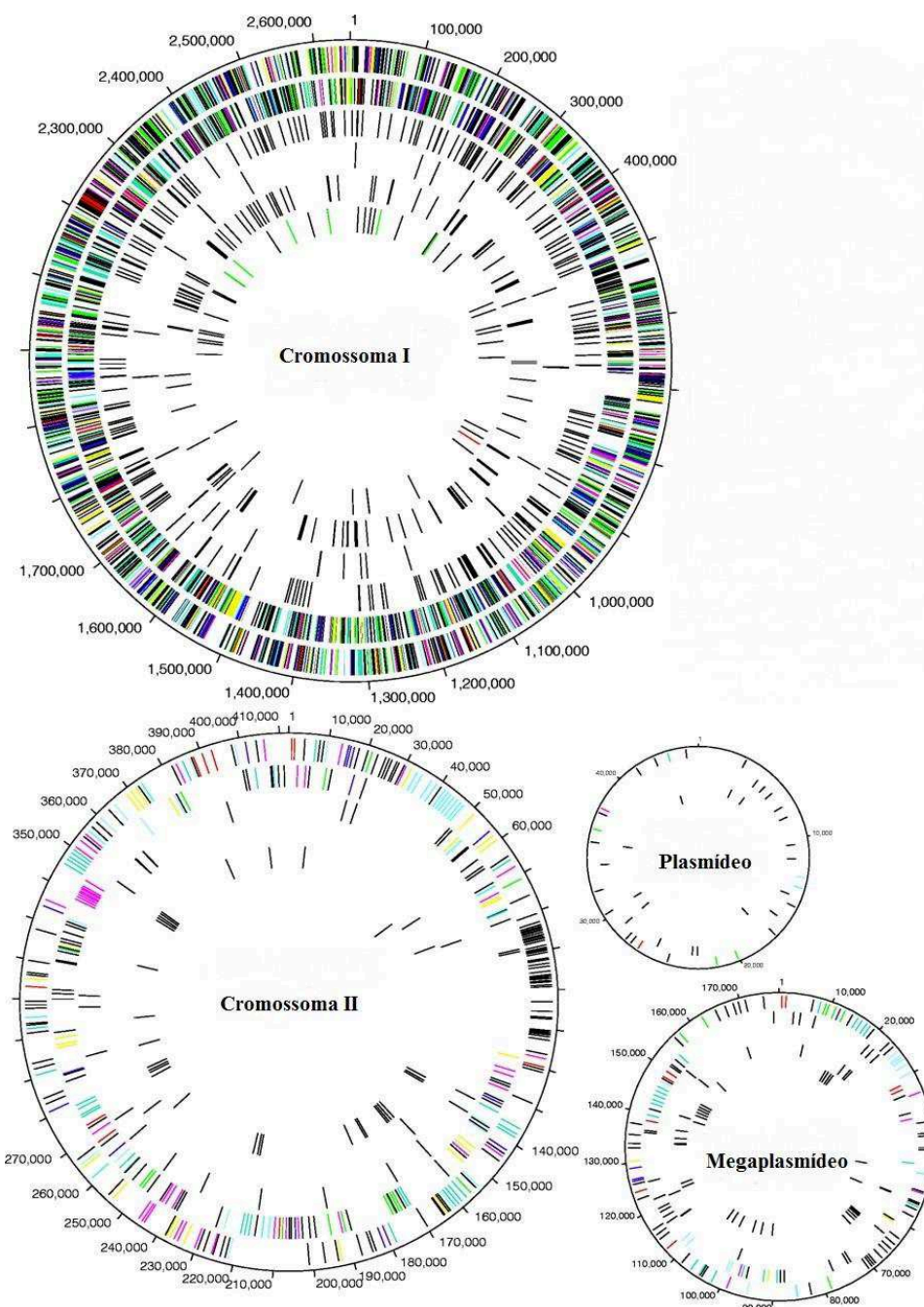


Figura 15– Representação circular do genoma da *Deinococcus radiodurans*. Adaptado do artigo “Genome Sequence of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* R1”, White.O, 1999.

## 7.2 Mecanismo de resistência ao stress oxidativo

A *Deinococcus radiodurans* tem revelado ser detentora de mecanismos únicos de protecção e reparação do seu DNA, mesmo quando exposta a situações de stress oxidativo. Alguns factores como a estrutura da sua parede celular, a estrutura do seu genoma, o seu sistema de reparação de DNA altamente eficaz, a capacidade de protecção das suas proteínas quando expostas a stress oxidativo, a sua capacidade de remoção activa de compostos tóxicos presentes nas suas células e as suas características específicas de expressão de DNA e da sua regulação, mesmo perante estas condições, são considerados os pontos chave para a sua resistência quando exposta a estas situações (Agapov, A A; Kulbachinskiy, 2015) (Misra, H. S.; Rajpurohit & Kota, 2013).

Este possui na sua constituição enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase e a catalase o que é considerado também um mecanismo de resistência a este tipo de situações (Tian, Bing; Xu, Zhenjian; Sun, Zongtao; Lin, Jun; Hua, 2007).

Para além disso, esta possui também no seu genoma antioxidantes não-enzimáticos, os carotenóides. Esta tem uma elevada produção deste composto, o que explica a sua coloração avermelhada. Visto que quando se inibe a produção destes compostos nesta bactéria a sua coloração se altera (Tian, Bing; Xu, Zhenjian; Sun, Zongtao; Lin, Jun; Hua, 2007).



Figura 16 – Em A, colónias de *Deinococcus radiodurans* no seu estado natural. Em B, colónias de *Deinococcus radiodurans* com a produção de carotenóides inibida. Adaptado do artigo “*Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence and DNA damage analyses*”, Tian, Bing; Xu, Zhenjian; Sun, Zongtao; Lin, Jun; Hua, 2007.

### 7.3 Aplicações

A *Deinococcus radiodurans* pode ter múltiplas aplicações, nomeadamente na remoção ou redução de contaminações ambientais, passando também pela biossíntese de nanopartículas (Chen, Contreras, & Keitz, 2017).

Uma das formas existentes de remoção/redução das contaminações ambientais consiste em utilizar microorganismos que têm a capacidade de degradar os poluentes orgânicos, com vista a torna-los menos tóxicos para o meio ambiente. Estes poluentes podem ser encontrados na água, no solo, entre outros locais. Assim sendo, esta bactéria tem uma capacidade extrema de realizar este tipo de degradação, o que poderá representar uma mais valia na preservação do meio que nos envolve (Chen et al., 2017). No que toca à nanotecnologia, esta tem ganho bastante relevância por parte da comunidade científica visto ter diversas aplicações de interesse. Nomeadamente para a indústria, para a agricultura, para a área de diagnóstico, para a medicina e, como forma de dispensa terapêutica (Chen et al., 2017). As nanopartículas são habitualmente produzidas envolvendo métodos físicos e químicos, o que permite a obtenção de partículas com tamanho e pureza química controlável, ambos factores importantes na maioria das suas aplicações. No entanto, o consumo de energia durante os processos físicos excessivo, o uso de demasiados compostos químicos e a alta probabilidade de libertação de compostos perigosos limitam a utilização destes processos, o que leva à procura de novas alternativas biocompatíveis e amigas do ambiente. A biossíntese destas nanopartículas utilizando plantas ou microorganismos cada vez ganha mais ênfase nos dias que correm (Li, Jiulong, Li, Qinghao, Ma, Xiaoqiong, Tian, Bing, Li, Tao, Yu, Jiangliu, Dai, Shang, Weng, Yulan, Hua, 2016).

A capacidade da *D.radiodurans* de sintetizar nanopartículas de ouro foi demonstrada, bem como a capacidade antibacteriana do ouro sintetizado por esta (Li, Jiulong, Li, Qinghao, Ma, Xiaoqiong, Tian, Bing, Li, Tao, Yu, Jiangliu, Dai, Shang, Weng, Yulan, Hua, 2016).

Como podemos observar nas imagens que se seguem:

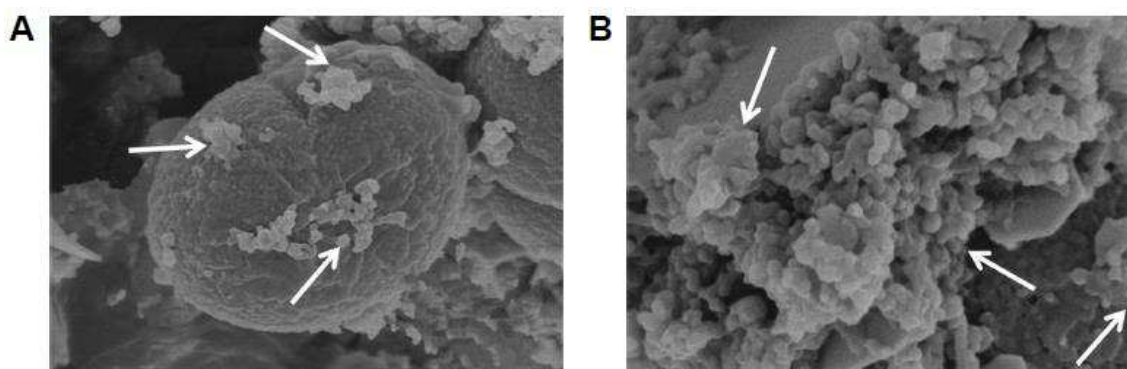


Figura 17 – Imagem captada por MEV durante a produção de nanopartículas de Ouro pela *Deinococcus radiodurans*. Em A, o tamanho é de 1mM de Au(III) e, em B o tamanho é de 5mM de Au (III) . Adaptado do artigo “*Biosynthesis of Gold nanoparticles by the extreme bacterium Deinococcus radiodurans and an evolution of their antibacterial properties*”, Li, Jiulong, Li, Qinghao, Ma, Xiaoqiong , Tian, Bing, Li, Tao, Yu, Jiangliu, Dai, Shang, Weng, Yulan, Hua, 2016.

Por último, mas não menos importante, a aplicação da *Deinococcus radiodurans* na área biomédica. Esta bactéria pode ser utilizada em estudos na área do envelhecimento e na área do cancro, visto que ambos estão relacionados directamente com as lesões provocadas no *DNA*, *RNA* e proteínas que resultam do stress oxidativo a que as nossas células estão expostas (Slade & Radman, 2011).

Estas têm uma capacidade impar de se multiplicarem de forma intacta quando expostas a níveis de stress oxidativo muito elevados, em condições extremas. No seu genoma estão presentes várias enzimas que fazem parte dos vários mecanismos de reparação de *DNA* presentes nas células dos humanos, particularmente as que fazem parte do mecanismo *BER* (Rew, 2003) (Agapov, A A; Kulbachinskiy, 2015).

Assim sendo, o estudo do funcionamento desta bactéria a nível do seu ciclo celular baseia-se principalmente em saber como esta resiste a condições de stress oxidativo utilizando os seus mecanismos de reparação, que podem ser adaptados à realidade das células humanas. Contudo, é também importante perceber como esta funciona quando exposta a radiação, visto que apresenta algumas semelhanças com as células cancerígenas, pois ambas têm a capacidade de resistir a radiação, o que pode ser importante para o desenvolvimento de novas terapias na área do cancro (Rew, 2003) (Agapov, A A; Kulbachinskiy, 2015)



## 8 Conclusão

Com o desenvolvimento desta monografia podemos concluir que o mecanismo de excisão de base é fundamental para manter a integridade e estabilidade do genoma humano, garantindo a sua reparação quando são detectados erros.

Compreender o funcionamento das proteínas que o compõem é importante, bem como a sua regulação, visto que alterações na actividade destas enzimas podem traduzir-se na expressão de doenças neurodegenerativas e em vários tipos de cancro.

Organismos como a *Deinococcus radiodurans* são uma mais valia, não só para ajudar na compreensão destes mecanismos, mas também para o desenvolvimento de novas estratégias que nos permitam aumentar a eficácia na reparação do DNA humano.



## **9 Perspetivas Futuras**

No futuro este trabalho pode ter continuidade, nomeadamente pode ser direccionado para o mecanismo *BER* de “*long patch*”.

A regulação das proteínas poderá ser estudada, de forma a perceber quais as falhas eminentes neste processo que se possam traduzir em patologias.

O potencial da *Deinococcus radiodurans* do ponto de vista terapêutico seria um ponto interessante de estudo, tendo em conta os seus mecanismos de resistências e as suas capacidades de reparação.



## 10 Referências Bibliográficas

- Agapov, A A;Kulbachinskiy, A. V. (2015). Mechanisms of Stress Resistance and Gene Regulation in the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans*. *Biochemistry. Biokhimiia*, 80(10), 1201–16. <http://doi.org/10.1134/S0006297915100016>
- Ahmed, Tayyaba;Nawaz, S., Noreen, Rabia;Bangash, Kashif Sardar;Rauf, Abdur;Younis, M., Anwar, K., & Khawaja, Muhammad Athar;Azam, Maleeha;Qureshi, Abid Ali;Akhter, Saeed;Kiemeneey, Lambertus A;Qamar, Raheel;Ali, S. H. B. (2017). A 3' untranslated region polymorphism rs2304277 in the DNA repair pathway gene OGG1 is a novel risk modulator for urothelial bladder carcinoma. *Annals of Human Genetics*, (5). <http://doi.org/10.1111/ahg.12225>
- Battista, J. R. (1997). AGAINST ALL ODDS:The Survival Strategies of *Deinococcus radiodurans*. *Annual Review of Microbiology*, 51(1), 203–224. <http://doi.org/10.1146/annurev.micro.51.1.203>
- Beard, W. A., & Wilson, S. H. (2006). Structure and Mechanism of DNA Polymerase.
- Burgers, P. M. J., Koonin, E. V., Bruford, E., Blanco, L., Burtis, K. C., Christman, M. F., ... Woodgate, R. (2001). Eukaryotic DNA Polymerases: Proposal for a Revised Nomenclature. *Journal of Biological Chemistry*, 276(47), 43487–43490. <http://doi.org/10.1074/jbc.R100056200>
- Chaim, I. A., Nagel, Z. D., Jordan, J. J., Mazzucato, P., Ngo, L. P., & Samson, L. D. (2017). In vivo measurements of interindividual differences in DNA glycosylases and APE1 activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201712032. <http://doi.org/10.1073/pnas.1712032114>
- Chen, A., Contreras, L. M., & Keitz, B. K. (2017). Imposed environmental stresses facilitate cell-free nanoparticle formation by *Deinococcus radiodurans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(18), 1–37. <http://doi.org/10.1128/AEM.00798-17>
- Dyrkheeva, N. S., Lebedeva, N. A., & Lavrik, O. I. (2016). AP endonuclease 1 as a key

- enzyme in repair of apurinic/apyrimidinic sites. *Biochemistry (Moscow)*, 81(9), 951–967. <http://doi.org/10.1134/s0006297916090042>
- Goellner Eva, Svilar David , Almeida Karen H., and S. R. W. (2014). Targeting DNA Polymerase  $\beta$  for Therapeutic Intervention. *Curr Mol Pharmacol*, 68–87. <http://doi.org/10.1007/s11103-011-9767-z>.Plastid
- Guan, Qinghai;Chen, Zhiqiang;Chen, Qiangpu;Zhi, X. (2017). XRCC1 and XPD polymorphisms and their relation to the clinical course in hepatocarcinoma patients. *Oncology Letters*, 2783–2788. <http://doi.org/10.3892/ol.2017.6522>
- Jeppesen, Dennis Kjølhed;Bohr, Vilhelm a.;Stevnsner, T. (2011). DNA Repair Deficiency in Neurodegeneration. *DNA Repair*, 94(2), 166–200. <http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.04.013>.DNA
- Kantor, Micaella;Sobrado, Javier;Patel, Sima;Eiseler, Sara;Ochner, C. (2017). Hereditary Colorectal Tumors: A Literature Review on MUTYH-Associated Polyposis. *Gastroenterology Research and Practice*, 2017, 8693182. <http://doi.org/10.1155/2017/8693182>
- Krokan, H. E., & Bjørås, M. (2013). Base excision repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4), 1–22. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a012583>
- Leandro, Giovana S., Sykora, P., & Bohr, V. A. (2015). The impact of base excision DNA repair in age-related neurodegenerative diseases. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 776(7), 31–39. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2014.12.011>
- Li, Jiulong, Li, Qinghao, Ma, Xiaoqiong , Tian, Bing, Li, Tao, Yu, Jiangliu, Dai, Shang, Weng, Yulan, Hua, Y. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles by the extreme bacterium *Deinococcus radiodurans* and an evaluation of their antibacterial properties. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 5931–5944. <http://doi.org/10.2147/IJN.S119618>
- Li, Yinyin, Goronzy, Jörg J.Weyand, C. M. (2017). DNA damage, metabolism and aging in pro-inflammatory T cells. *Experimental Gerontology*, (September). <http://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.027>

- Lindahl, T., Modrich, P., & Sanca, A. (2015). THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2015 DNA repair – providing chemical stability for life The structure of DNA. *Nobel Prize*, 2, 0–1. Retrieved from [https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2015/popular-chemistryprize2015.pdf](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/popular-chemistryprize2015.pdf)
- Makarova, K. S., Aravind, L., Wolf, Y. I., Tatusov, R. L., Minton, K. W., Koonin, E. V., & Daly, M. J. (2001). Genome of the Extremely Radiation-Resistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* Viewed from the Perspective of Comparative Genomics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(1), 44–79. <http://doi.org/10.1128/MMBR.65.1.44-79.2001>
- Markkanen, E. (2017). Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage. *DNA Repair*, 59(September), 82–105. <http://doi.org/10.1016/j.dnarep.2017.09.007>
- Misra, H. S.; Rajpurohit, Y. S. ., & Kota, S. (2013). Physiological and molecular basis of extreme radioresistance in *Deinococcus radiodurans*. *Current Science*, 104(2), 194–205.
- Mortusewicz, O., Rothbauer, U., Cardoso, M. C., & Leonhardt, H. (2006). Differential recruitment of DNA ligase I and III to DNA repair sites. *Nucleic Acids Research*, 34(12), 3523–3532. <http://doi.org/10.1093/nar/gkl492>
- Odell, I. D., Barbour, J.-E., Murphy, D. L., Della-Maria, J. A., Sweasy, J. B., Tomkinson, A. E., Wallace, S. S., & Pederson, D. S. (2011). Nucleosome Disruption by DNA Ligase III-XRCC1 Promotes Efficient Base Excision Repair. *Molecular and Cellular Biology*, 31(22), 4623–4632. <http://doi.org/10.1128/MCB.05715-11>
- Portin, P. (2014). The birth and development of the DNA theory of inheritance: Sixty years since the discovery of the structure of DNA. *Journal of Genetics*, 93(1), 293–302. <http://doi.org/10.1007/s12041-014-0337-4>
- Rew, D. A. (2003). *Deinococcus radiodurans*. *European Journal of Surgical Oncology*, 29(6), 557–558. [http://doi.org/10.1016/S0748-7983\(03\)00080-5](http://doi.org/10.1016/S0748-7983(03)00080-5)
- Royal, T. H. E., Academy, S., & Sciences, O. F. (2016). Scientific Background on the Nobel Prize in Physics 2016 TOPOLOGICAL PHASE TRANSITIONS AND

compiled by the Class for Physics of the Royal Swedish Academy of Sciences, 50005.

- Roychoudhury, S., Nath, S., Song, H., Hegde, M. L., Bellot, L. J., Mantha, A. K., ... Bhakat, K. K. (2016). Human AP-endonuclease (APE1) is acetylated at DNA damage sites in chromatin and acetylation modulates its DNA repair activity. *Molecular and Cellular Biology*, (December), MCB.00401-16. <http://doi.org/10.1128/MCB.00401-16>
- Schärer, O. D. (2003). Chemistry and biology of DNA repair. *Angewandte Chemie - International Edition*, 42(26), 2946–2974. <http://doi.org/10.1002/anie.200200523>
- Slade, D., & Radman, M. (2011). *Oxidative Stress Resistance in Deinococcus radiodurans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* (Vol. 75). <http://doi.org/10.1128/MMBR.00015-10>
- Tian, Bing; Xu, Zhenjian; Sun, Zongtao; Lin, Jun; Hua, Y. (2007). Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1770(6), 902–911. <http://doi.org/10.1016/j.bbagen.2007.01.016>
- Timmins, J., & Moe, E. (2016). A Decade of Biochemical and Structural Studies of the DNA Repair Machinery of *Deinococcus radiodurans*: Major Findings, Functional and Mechanistic Insight and Challenges. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 14, 168–176. <http://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.04.001>
- Tomkinson, A. E., & Sallmyr, A. (2013). Structure and function of the DNA ligases encoded by the mammalian LIG3 gene. *Gene*, 531(2), 150–157. <http://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.061>
- van der Veen, S., & Tang, C. M. (2015). The BER necessities: the repair of DNA damage in human-adapted bacterial pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 13(2), 83–94. <http://doi.org/10.1038/nrmicro3391>
- Wallace, S. S., Murphy, D. L., & Sweasy, J. B. (2013). Base Excision Repair and Cancer. *Cancer Lett*, 327(1–2), 73–89. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.12.038>



- Watson, J. ; Crick, F. (1953). A structure for deoxyribose nucleic acid - Watson, Crick.pdf - Unknown.pdf. *Nature*, 4356(1), 737.
- White, O. (1999). Genome Sequence of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science*, 286(5444), 1571–1577. <http://doi.org/10.1126/science.286.5444.1571>
- Yao, YanHong;Wang, HaiTao;Li, B. (2014). LDH5 overexpression is associated with poor survival in patients with solid tumors: a meta-analysis. *Tumor Biology*, 35(35), 6973–6981. <http://doi.org/10.1007/s13277-014-1903-3>